

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460450

研究課題名(和文) 肝移植後免疫寛容と慢性拒絶のプロテオーム解析によるバイオマーカー検索

研究課題名(英文) A proteomic approach to identify biomarkers to discriminate between chronic rejection and immunological tolerance after liver transplantation

研究代表者

宮川 文 (Miyagawa-Hayashino, Aya)

京都大学・医学研究科・特定准教授

研究者番号：90432385

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：予後予測因子としてのバイオマーカー探索を目的に、正常肝を対照に免疫寛容、慢性拒絶(CR)例のプロテオーム解析を実施した。正常肝に比べCRで発現低下がみられたSTK17Aを選択し、患者組織で検証を行った。STK17Aは毛細胆管に発現し、CRの確定に至る前に、蛋白発現が減少、分布の異常がみられた。CRの早期診断に有用であると考えられた。免疫寛容群を予測する因子の抽出は現在検証中である

研究成果の概要(英文)：Chronic rejection (CR) remains a serious cause of liver allograft dysfunction. The biomarkers to predict the patients' outcome are necessary to determine the immunosuppressive strategies early after transplantation. Using antibody microarray, we provided evidence about the down-expression of STK17A in CR. STK17A is a member of the death-associated protein kinase family. Its biological significance in the liver is unknown. We found a new location for STK17A in bile canaliculi. During the evolution of CR, the staining pattern of bile canaliculi STK17A gradually changed from diffuse linear to focal intermittent. The alteration in the expression pattern of STK17A in bile canaliculi may help identify early stages of the disease. We applied liver tissue samples of tolerance and CR to liquid chromatography mass spectrometry to investigate the biomarker to discriminate between the tolerance and CR early after LT and the validation study for candidate proteins has been undertaken.

研究分野：医歯薬学

キーワード：肝移植 慢性拒絶 免疫寛容 バイオマーカー

#### 1. 研究開始当初の背景

免疫抑制剤や肝移植後合併症の知見の進歩により、肝移植患者の一部では長期的に肝機能が安定し、免疫抑制剤を中止できる免疫寛容 (TL) の状態に至る例がある一方、慢性拒絶 (CR) によりグラフト不全に至る例もある。過剰な免疫抑制剤の影響を避けるためには CR に至る例と TL に至る例を移植後早期に区別し、免疫抑制剤の調整を行うことが望ましい。

#### 2. 研究の目的

予後予測因子としてのバイオマーカー探索を目的に、TL、CR 例のプロテオーム解析を実施し、正常肝臓との比較検討により候補蛋白質を同定し、移植後の患者組織検体にて臨床的意義を検証する。

#### 3. 研究の方法

TL、CR 例のグラフト組織検体から蛋白を抽出し、抗体アレイや質量分析を用いて、網羅的に発現蛋白を解析し、正常肝との比較検討により両者に特異的なバイオマーカー候補蛋白を抽出する。患者の移植後経時的移植後生検を用いて、候補蛋白質の発現細胞、分布、発現の程度を検討し、予後との関連を検討する。

#### 4. 研究成果

正常肝に比較して、CR で発現低下がみられた STK17A を選択し、発現細胞および分布の検証を行った。STK17A は death-associated protein kinase family に属するキナーゼだが、肝臓での分布機能は不明である。STK17A は毛細胆管に発現し、CR の確定に至る前に、蛋白発現が減少、分布の異常がみられた。CR の早期診断に有用であると考えられた。免疫寛容群、正常肝、拒絶群を比較検討した解析では、各群で有意な差がある候補タンパク質を選択し、検証を行っている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

##### [雑誌論文](計 13 件)

Hirata Y, Yoshizawa A, Egawa H, Ueda D, Okamoto S, Okajima H, Yurugi K, Hishida R, Hirai H, Miyagawa-Hayashino A, Maekawa T, Haga H, Uemoto S. Impact of Antibodies that React with Liver Tissue and Donor-specific anti-HLA Antibodies in Pediatric Idiopathic Posttransplantation Hepatitis. *Transplantation* 2017;101:1074-1083. doi: 10.1097/TP.0000000000001653. 査読有

Salah A, Yoshifuji H, Ito S, Kitagori K, Kiso K, Yamada N, Nakajima T, Haga H, Tsuruyama T, Miyagawa-Hayashino A. High Expression of Galectin-3 in Patients with IgG4-Related Disease: A Proteomic Approach. *Patholog Res Int.* 2017;2017:9312142. doi: 10.1155/2017/9312142. 査読有

Yamaguchi M, Kataoka TR, Shibayama T, Fukuda A, Nakazawa A, Minamiguchi S, Sakurai T, Miyagawa-Hayashino A, Yorifuji T, Kasahara M, Uemoto S, Haga H. Loss of Hep Par 1 immunoreactivity in the livers of patients with carbamoyl phosphate synthetase 1 deficiency. *Pathol Int* 2016;66:333-336. doi: 10.1111/pin.12414. 査読有

Ozeki M, Salah A, Aini W, Tamaki K, Haga H, Miyagawa-Hayashino A. Localization of STK17A in Bile Canaliculi in Liver Allografts: An Early Sign of Chronic Rejection. *PLoS One* 2015;10:e0136381. doi: 10.1371/journal.pone.0136381. 査読有

Okuno M, Hatano E, Nakamura K, Miyagawa-Hayashino A, Kasai Y, Nishio T, Seo S, Taura K, Uemoto S. Regorafenib suppresses sinusoidal obstruction syndrome in rats. *J Surg Res* 2015;193:693-703. doi: 10.1016/j.jss.2014.08.052. 査読有

Takeuchi Y, Miyagawa-Hayashino A, Chen F, Kubo T, Handa T, Date H, Haga H. Pleuroparenchymal Fibroelastosis and Non-Specific Interstitial Pneumonia: Frequent Pulmonary Sequelae of

Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Histopathology 2015;66:536-544. doi: 10.1111/his.12553. 査読有

Chen F, Matsubara K, Miyagawa-Hayashino A, Tada K, Handa T, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Date H. Lung transplantation for pleuroparenchymal fibroelastosis after chemotherapy. Ann Thorac Surg 2014;98:e115-117. doi: 10.1016/j.athoracsur.2014.07.045. 査読有

Morimura Y, Chen F, Kinjo T, Miyagawa-Hayashino A, Kubo T, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Date H. Successful single-lung transplantation for multicentric castlemans disease. Ann Thorac Surg 2014;98:e63-65. doi: 10.1016/j.athoracsur.2014.06.074. 査読有

Yamamoto H, Yoshida K, Koizumi T, Tokoro Y, Fukushima T, Tateishi K, Ushiki A, Yokoyama T, Yasuo M, Urushihata K, Hanaoka M, Shingu K, Shimojo H, Kanno H, Yoshizawa A, Kawakami S, Miyagawa-Hayashino A, Date H, Kubo K. Late-onset Rejection of a Unilateral Donor Lung with Vascular C4d Deposition in Bilateral Living-donor Lobar Lung Transplantation: An Autopsy Case Report. Intern Med 2014;53:1645-1650 査読有

Aini W, Miyagawa-Hayashino A, Ozeki M, Adeeb S, Hirata M, Tamaki K, Uemoto S, Haga H. Accelerated telomere reduction and hepatocyte senescence in tolerated human liver allografts. Transpl Immunol 2014;31:55-59. doi: 10.1016/j.trim.2014.06.008. 査読有

Successful treatment with tocilizumab in a case of intralymphatic histiocytosis associated with rheumatoid arthritis. Nakajima T, Kawabata D, Nakabo S, Miyagawa-Hayashino A, Yukawa N, Yoshifuji H, Ohmura K, Fujii T, Mimori T. Intern Med. 2014;53(19):2255-8. 査読有

Neutrophil gelatinase-associated

lipocalin in idiopathic pulmonary fibrosis. Ikezoe K, Handa T, Mori K, Watanabe K, Tanizawa K, Aihara K, Tsuruyama T, Miyagawa-Hayashino A, Sokai A, Kubo T, Muro S, Nagai S, Hirai T, Chin K, Mishima M. Eur Respir J. 2014 Jun;43(6):1807-9. doi: 10.1183/09031936.00192613. 査読有

Redo living-donor lobar lung transplantation for bronchiolitis obliterans associated with antibody-mediated rejection. Chen F, Miyagawa-Hayashino A, Yurugi K, Chibana N, Yamada T, Sato M, Aoyama A, Takakura S, Bando T, Date H. Transpl Int. 2014 Feb;27(2):e8-12. doi: 10.1111/tri.12224. 査読有

[学会発表](計 8 件)

上田佳秀、海道利実、岡島英明、秦浩一郎、八木真太郎、穴澤貴行、吉澤 淳、山敷宣代、宮川 文、羽賀博典、丸澤宏之、妹尾 浩、上本伸二、肝移植後の C 型肝炎に対する sofosbuvir-based therapy の現状と今後の課題、第 35 回日本肝移植研究会 2017.6.1-2 大阪

上田大輔、吉澤 淳、平田義弘、菱田理恵、万木紀美子、宮川 文、小川絵里、飯田 拓、八木真太郎、秦浩一郎、藤本康弘、小川晃平、森 章、岡島英明、海道利実、羽賀博典、上本伸二、肝移植後遠隔期の抗ドナー HLA 抗体に対する免疫抑制療法の効果とグラフト肝線維化への影響、第 33 回日本肝移植研究会 2015.5.28-29 兵庫・神戸

飯田 拓、海道利実、堀 智英、八木真太郎、吉澤 淳、藤本康弘、小川晃平、森 章、岡島英明、宮川 文、南口早智子、羽賀博典、上本伸二、脳死肝移植グラフトの術前質的評価について：脳死肝移植におけるゼロバイオプシーの病理診断乖離例の検討、第 33 回日本肝移植研究会 2015.5.28-29 兵庫・神戸

宮川 文[林野], 鶴山 竜昭, 羽賀 博典.  
生体肝移植後長期合併症と免疫寛容、グ  
ラフトの老化との関連、第 60 回日本病理  
学会 秋期特別総会 2014.11.20-11.21  
沖縄・那覇

竹内 康英, 片岡 竜貴, 宮川 文, 吾拉  
木江 艾尼, 羽賀 博典、HLA 3 座不一致  
生体肝移植術後、急性拒絶反応を経て移  
植片対宿主病を発症した 1 剖検例、第 60  
回日本病理学会 秋期特別総会  
2014.11.20-11.21 沖縄・那覇

上田大輔、吉澤 淳、平田義弘、菱田理  
恵、万木紀美子、宮川(林野) 文、秦  
浩一郎、植村忠弘、藤本康弘、小川晃平、  
森 章、岡島英明、海道利実、羽賀博典、  
上本伸二、成人症例における肝移植後  
における抗ドナー抗体測定 of 臨床的意義の  
検討、第 32 回日本肝移植研究  
会 2014.7.3-4 東京・新宿

特発性移植後肝炎における自己免疫の関  
与の検証、平田 義弘, 吉澤 淳, 宮川 文,  
小川 晃平, 藤本 康弘, 岡本 晋也, 海  
道 利実, 羽賀 博典, 上本 伸二、日本外  
科学会雑誌 (0301-4894)115 巻臨増 2  
Page580(2014.03) 論文種類：会議録

肝移植後微小血管症における補体系の関  
与に関する検討、田中 宏和, 久保田 豊  
成, 秦 浩一郎, 平尾 浩史, 岡村 裕輔,  
稲本 道, 門野 賢太郎, 影山 詔一, 内  
田 洋一郎, 宮川 文, 羽賀 博典, 上本  
伸二、日本外科学会雑誌(0301-4894)115  
巻臨増 2 Page317(2014.03) 論文種類：  
会議録

〔図書〕(計 1 件)

Miyagawa-Hayashino A, Haga H, Springer  
Nature, Berlin, Germany, Chapter 7.  
Recurrent primary sclerosing cholangitis  
in comparison with native primary  
sclerosing cholangitis. In: Nakanuma Y ed.  
Pathology of the Bile Duct. 2017 (印刷中)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
宮川 文(MIYAGAWA, Aya)  
京都大学大学院医学研究科・特定准教授  
研究者番号：90432385

(2)研究分担者  
鶴山竜昭(TSURUYAMA, Tatsuaki)  
京都大学大学院医学研究科・特定教授  
研究者番号：00303842

(3)連携研究者

(4)研究協力者  
( )